

12. FUJITO N, SAMURA O, MIHARU N, TANIGAWA M, HYODO M, KUDO Y. Increased plasma mRnas of placenta-specific 1 (PLAC1) and glial cells-missing 1 (GCM1) in mothers with pre-eclampsia. *Hiroshima J Med Sci* 2006;55:9-15.
13. REDMAN CW, SARGENT IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science* 2005;308:1592-4.
14. SIBAI B, DEKKER G, KUPFERMINEC M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005;365:785-99.
15. CONDE-AGUDELO A, VILLAR J, LINDHEIMER M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2004;104:1367-91.
16. FARAG K, HASSAN I, LEDGER WL. Prediction of preeclampsia: can it be achieved? *Obstet Gynecol Surv* 2004;59:464-82; quiz 485.
17. ESPINOZA J, ROMERO R, NIEN J, et al. Identification of patients at risk for early onset and/or severe preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and placental growth factor. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:326.e1-326.e13.
18. LEVINE RJ, LAM C, QIAN C, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006;355:992-1005.

19. LEVINE RJ, MAYNARD SE, QIAN C, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004;350:672-83.
20. VENKATESHA S, TOPORSIAN M, LAM C, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 2006;12:642-9.

Table 1: Characteristics of controls and preeclampsia at enrolment and characteristics of their infants*

Characteristic	Controls** (n=310)	Preeclampsia (n=62)	p†
Women			
Age (years)	27.90 ±5.37	28.90 ±5.65	0.278
Height (cm)	154 ± 5.89	155±6.42	0.328
Weight (kg)	55.58±9.17	56.71±9.58	0.557
Body mass index‡	27.37 ±3.45	23.51 ±3.75	0.180
Systolic blood pressure (mmHg)	105±9.6	106 ±10.6	0.479
Diastolic blood pressure (mmHg)	69 ±7.1	69±7.5	0.933
Primigravida (%)	268 (86.4%)	19 (30.6%)	<0.0002
Gestational age at enrolment (weeks)	17.3±2.3	17.3 ±2.2	0.977
Current smoker (%)	0.9	3.2	0.164
Previous hypertension (%)	1.4	3.2	0.283
Previous preeclampsia (%)	1.4	0	1
Previous preterm delivery (%)	1.1	0	1
Previous foetal growth restriction (%)	0.9	1.6	0.476

*Enrolment in this study was at gestational week 15-20. Plus-minus values represent mean ±standard deviation. P values are given only for significant differences in comparison with controls. **Controls were women with no preexisting medical diseases or antenatal complications.

†Student's t-test or χ^2 test

‡Body mass index, as weight in kilograms divided by the square of height in metres.

Table 2: Characteristics of preeclampsia patients (n=62) at later gestation and characteristics of their infants

Characteristic*	Mild Preeclampsia (n=26)	Severe preeclampsia (n=24)	HELLP (n=12)
Women			
Age (years)	31.5 (20 – 40)	27.5 (19 – 42)	24.5 (20 – 35)
Body mass index‡	24.6 (19.3 – 33.3)	21.9 (17.4 – 29.4)	21.7 (18.4 – 30.3)
Systolic blood pressure (mmHg)	150 (130-160)	175 (160 – 195)	185 (160 – 180)
Diastolic blood pressure (mmHg)	90 (90 -100)	115 (110 – 195)	110 (100- 140)
Proteinuria (g/24h)	0.75 (0.3 – 6.4)	6 (5.0 – 8.2)	5.55 (3.8 – 9.5)
Primigravida (%)	8 (30.7%)	7 (29.1%)	5 (41.6%)
Infants			
Birth weight (g)	2775 (1500 – 3290)	2475 (1740 – 3900)	2400 (1600 – 3130)
Gestational age at delivery (weeks)	37.45 (33 – 40)	37.2 (34 – 40)	36.4 (34 – 40)
Small for gestational age, <10th percentile (%)	8 (30.7%)	11 (45.8%)	7 (58.3%)

*Measurement on admission to the hospital. Values represent median (min – max).

‡Body mass index, as weight in kilograms divided by the square of height in metres.

Abbreviations: HELLP: hemolysis, elevated liver enzyme, low platelets syndrome

Table 3: Means (SD*) of cases and controls

mRNA species (Log10 scale) †	Controls (n=310)	Preeclampsia (n=62)	p-value**
PLAT	1.17 (0.42)	2.17 (0.52)	<0.001
SERPINE1	2.27 (0.39)	2.66 (0.57)	<0.001
FLT1	1.90 (0.32)	2.39 (0.32)	<0.001
VEGFA	3.25 (0.27)	3.77 (0.38)	0.030
ENG	3.66 (0.31)	3.99 (0.47)	<0.001
SELP	2.42(0.69)	2.93 (0.85)	0.029
PLAC1	3.52 (0.67)	3.94 (0.86)	0.040

Power ranged between 0.94 to 1 at a given type I error of 0.05

*SD, standard deviation

**Student's t test

†Expression levels of plasminogen activator inhibitor-1 (SERPINE1), tissue-type plasminogen activator (PLAT), vascular endothelial growth factor (VEGFA), VEGFA receptor 1 (FLT1), endoglin (ENG), placenta-specific 1 (PLAC1) and selectin P (SELP) are expressed as copies per millilitre.

Table 4: Output of univariable ROC curve for each available marker and multivariable ROC curve using the discriminant score of developing preeclampsia as test variable†

Variables	Area under the curve	SEM	p-value	95% Confidence Interval for area under the curve		DR at 5% FPR	95% Confidence Interval for DR	
				Lower	Upper		Lower	Upper
FLT1	.846	.032	<0.001	.783	.909	58.0%	44.8	70.2
ENG	.756	.038	<0.001	.683	.830	43.5%	31.2	56.6
SERPINE1	.732	.037	<0.001	.660	.805	29.0%	18.5	42.1
SELP	.727	.033	<0.001	.662	.792	24.2%	14.5	37.0
PLAT	.686	.042	<0.001	.604	.768	33.9%	22.6	47.1
VEGFA	.651	.042	<0.001	.568	.734	29.0%	18.5	42.1
PLAC1	.645	.040	<0.001	.567	.723	17.7%	9.6	29.9
Score	0.927	0.025	<0.001	0.877	0.976	84.0%	71.8	91.5

†Abbreviations:

SERPINE1: plasminogen activator inhibitor-1, PLAT:tissue-type plasminogen activator, VEGFA:vascular endothelial growth factor, FLT1: VEGFA receptor 1, ENG: endoglin, PLAC1: placenta-specific 1 and SELP: selectin P,

SEM: standard error of the mean, DR: detection rate, FPR: false-positive rate.

Under nonparametric assumption

Null hypothesis: true area = 0.5

Table 5: Output of multivariable receiver operating characteristic (ROC) curve using the discriminant score of developing preeclampsia as test variable according to severity of preeclampsia

Variables	Area under the curve	SEM	p-value	95% Confidence Interval for area under the curve		DR at 5% FPR	95% Confidence Interval for DR	
				Lower	Upper		Lower	Upper
Mild PE (n=26)	.837	.055	<0.001	.728	.945	65.4%	44.3	82.0
Severe PE (n=24)	.989	.005	<0.001	.980	.998	95.8%	76.8	99.7
HELLP Syndrome (n=12)	.997	.004	<0.001	.991	1.000	100%	69.8	100

Abbreviations: PE: preeclampsia, SEM: standard error of the mean, DR: detection rate, FPR: false-positive rate.

Figure Legends

Figure 1: Mean (\pm SD) mRNA levels of plasminogen activator inhibitor-1 (SERPINE1, Figure 1a), tissue-type plasminogen activator (PLAT, Figure 1b), vascular endothelial growth factor (VEGFA, Figure 1c), VEGFA receptor 1 (FLT1, Figure 1d), endoglin (ENG, Figure 1e), placenta-specific 1 (PLAC1, Figure 1f), and selectin P (SELP, Figure 1g) in controls and women with preeclampsia, stratified in accordance with the severity of preeclampsia (mild, severe preeclampsia, and hemolysis, elevated liver enzyme, low platelets (HELLP) syndrome)

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ Scheffe post hoc test.

Figure 2 : Multivariable receiver operating characteristic (ROC) curve obtained by using the discriminant score as test variable for prediction of preeclampsia

妊娠中期の子宮動脈血流速度波形計測と血清 sFlt1:PIGF 比及び sEng 反復測定による早産妊娠高血圧腎症発症予知法の開発

自治医科大学産科婦人科学講座

大口昭英、松原茂樹

研究要旨

目的: 妊娠中期の子宮動脈血流速度波形異常妊婦の他に、これまで知られている妊娠高血圧腎症 (preeclampsia, PE) 発症のハイリスク因子である妊娠中期の血圧レベル上昇、既往 PE 発症妊婦なども対象に加えて、これらの妊婦に対して血清 soluble fms-like tyrosine kinase 1: placental growth factor 比 (sFlt1:PIGF 比) 及び soluble endoglin (sEng) 反復測定を行うことで、この方法が早産となる PE (preterm PE) 発症予知に有用か否かを検討する。

方法: 1.【sFlt1:PIGF 比の妊娠中の正常域の決定】すでに先行研究により保存されている妊婦 1500 名の妊婦血清のうち、妊娠 20-40 週間に 3 回採血し得た正常妊婦血清の sFlt1、PIGF を測定し、sFlt1:PIGF 比の正常域を決定する。2.【子宮動脈血流異常妊婦における、sFlt1:PIGF 比、sEng の preterm PE 発症予知精度の検討】先行研究において、妊娠中期に子宮動脈血流速度波形計測を行った妊婦 1500 名のうち、子宮動脈血流速度波形異常を認めた妊婦(約 10%)の保存血清を用いて、妊娠 16-23 週および妊娠 27-29 週での sFlt1:PIGF 比、sEng を測定し、PE ことに preterm PE 発症の陽性的中率を明らかにする。3.【PE ハイリスク妊婦における、sFlt1:PIGF 比、sEng 反復測定による preterm PE 発症予知法の開発】今後、子宮動脈血流速度波形異常、外来血圧 130/85mmHg 以上、及びその他の PE ハイリスク因子を保持する妊婦において、4 週毎に血液を採取し、sFlt1:PIGF 比及び sEng 濃度を後日測定し、これらの血清マーカーの preterm PE の発症予知への有用性を検討する。

結果: 1.【sFlt1:PIGF 比の妊娠中の正常域の決定】sFlt1、PIGF、sFlt1:PIGF 比、および sEng の 4 指標について、正常妊婦 85 例の妊娠 20~39 週での在胎週数と平均値および SD の関係を最も近似する数式を求め、在胎週数別の 95% 値および 5% 値を決定した。2.【子宮動脈血流異常妊婦における、sFlt1:PIGF 比、sEng の preterm PE 発症予知精度の検討】本研究は、まだ着手していない。来年度以降に実施する予定である。3.【PE ハイリスク妊婦における、sFlt1:PIGF 比、sEng 反復測定による preterm PE 予知法の開発】本年度、この研究を行うために、本大学臨床研究倫理審査へ臨床研究申請書を提出し、9 月 17 日付けで承認された。本年 10 月より本研究を開始し、現在症例を集積中である。

結論: PE のハイリスク妊婦を対象として、血清マーカーを用いた preterm PE の発症予知法の開発に取り組み始めた。この子宮動脈血流速度波形を利用したハイリスク妊婦選択方法は、スクリーニングによるハイリスク群の検出率を 10% に抑えながらも、preterm PE の感度が 80% と優れた方法であることを、すでに先行研究で明らかにしている。さらに、本研究では、これまで知られている PE 発症のハイリスク因子である妊娠中期の血圧レベル上昇、既往 PE 発症妊婦なども PE のハイリスク妊婦に加えることで、preterm PE の感度を 100% に近づけるように工夫した。さらに、本研究で行う血清マーカーの反復測定を組み合わせることで、これまで子宮動脈血流速度波形単独での preterm PE 予知法の欠点であった低い陽性的中率(5~10%)を大きく改善し、50% 以上の高い陽性的中率になると予想している。

目的

Papageorgiou らは 8000 人以上の妊婦を対象に、妊娠 22-24 週で子宮動脈血流速度波形を計測した。その結果、子宮動脈血流速度波形異常は、結果的に早産となる妊娠高血圧腎症(preeclampsia:PE)発症予知能が高いことを ROC 分析により明らかにした(1)。一方、Levine らは 4500 人以上の妊婦コホートを対象に、妊娠 21-32 週で soluble fms-like tyrosine kinase 1 : placental growth factor 比 (sFlt1:PIGF 比) 及び soluble endoglin (sEng)濃度をそれぞれ計測・測定した(2)。その結果、正常妊婦における sFlt1:PIGF 比及び sEng 濃度の上位 25%を高値(異常)と定義した場合に、両者が異常を示した場合に、結果的に早産(37 週未満)となってしまう妊娠高血圧腎症(preterm PE)発症リスクは約 32 倍と高かった(2)。以上の知見は、子宮動脈血流速度波形計測と血管新生因子関連物質(sFlt1, PIGF, sEng)の測定を組み合わせれば、preterm PE の発症を高率に予知できる可能性を示唆している。PE 発症予知ができれば、妊婦健診でこれを取り入れ、PE 早期発見介入への道が開ける。

我々は、すでに以下の成果を得ている(未発表データ)。

1. 妊娠 16~23 週の全妊婦中に、子宮動脈血流速度波形計測で、resistance index (RI)異常と notch depth index (NDI : 我々が提唱確立した拡張早期 notch 深度指標)異常を示す妊婦は 10%だけ存在した。preterm PE の 80% は、この 10%の子宮動脈血流異常妊

婦から出た。

2. preterm PE 発症後には、その 98%に sFlt1:PIGF 比及び sEng の両者異常高値(□95 パーセント値)を認めた。
3. sFlt1:PIGF 及び sEng を preterm PE 発症予知に用いる場合、ROC 曲線より、75 パーセンタイル値が最適カットオフ値と考えられた。
4. 子宮動脈血流速度波形計測異常を呈し、結果的に preterm PE となった全症例において、PE 発症前に sFlt1:PIGF 比及び sEng 両者が高値(□ 5 パーセント値)を示した。

以上の結果は、子宮動脈血流速度波形異常でスクリーニングを行い、続いて、sFlt1:PIGF 比及び sEng 高値を反復測定することで、preterm PE となるハイリスク妊婦を効率的に(1/10 のコストで)、かつ、高い感度で(80%)スクリーニングできることを示唆している。

本研究では、妊娠中期の子宮動脈血流速度波形異常妊婦の他に、これまで知られている PE 発症のハイリスク因子である妊娠中期の血圧レベル上昇、既往 PE 発症妊婦なども対象に加えて、これらの妊婦に対して血清 sFlt1:PIGF 比及び sEng 反復測定を行うことで、この方策が preterm PE 発症予知に有用か否かを検討する。

対象及び方法

以下 3 つの研究を行う。

1. 【sFlt1:PIGF 比の妊娠中の正常域の決定】

2003 年~2008 年において前方視的に

行われた「大学院整備重点化経費—研究科特別経費、期間：平成 15-17 年度、研究課題名：妊娠中期の子宮動脈血流速度波形異常妊婦における血清 sFlt1 の経時の変化と preeclampsia 発症に関する追跡研究」および「文部科学省科学研究費 研究番号：18591809、平成 18-19 年度、研究課題名：血清 P1GF を含む早発型 PE 発症に関与するリスク因子の前向き研究」において、妊婦 1500 名の妊婦血清が保存されている。これらの試料のうち、妊娠 20-40 週の間 3 回採血し得た正常妊婦血清 300 検体の sFlt1、PlGF を測定し、sFlt1:PlGF 比の reference range を決定する。

2. 【子宮動脈血流異常妊婦における、sFlt1:PlGF 比、sEng の preterm PE 発症予知精度の検討】

2003 年～2008 年において前方視的に行われた「大学院整備重点化経費—研究科特別経費、期間：平成 15-17 年度、研究課題名：妊娠中期の子宮動脈血流速度波形異常妊婦における血清 sFlt1 の経時の変化と preeclampsia 発症に関する追跡研究」および「文部科学省科学研究費 研究番号：18591809、平成 18-19 年度、研究課題名：血清 P1GF を含む早発型 PE 発症に関与するリスク因子の前向き研究」において、妊娠中期に子宮動脈血流速度波形計測を行った妊婦 1500 名の妊婦血清が保存されている。子宮動脈血流速度波形異常を認めた正常妊婦において、これらの保存試料を用いて、妊娠 16-23 週および妊娠 27-29 週での sFlt1:PlGF 比、sEng を測定し、PE ことに preterm PE 発症の positive predictive value を明らかにす

る。

3. 【PE ハイリスク妊婦における、sFlt1:PlGF 比、sEng 反復測定による preterm PE 発症予知法の開発】

今後、子宮動脈血流速度波形異常、外来血圧 130/85 以上、及びその他の PE ハイリスク因子を保持する妊婦において、4 週毎に血液を採取し、sFlt1:PlGF 比及び sEng 濃度を適宜測定 (1 回/月程度) し、preterm PE の発症予知への有用性を検討する。

結果

1. 【sFlt1:PlGF 比の妊娠中の正常域の決定】

本研究の成果は、2008 年 10 月に行われた第 29 回日本妊娠高血圧学会学術集会シンポジウム「妊娠高血圧症候群の病態に迫る」S-4「血管新生関連因子と妊娠高血圧症候群」で報告した。

図 1 に、sFlt1、PlGF、sFlt1:PlGF 比、および sEng の 4 指標について、正常妊婦 85 例の妊娠 20～39 週でのデータの分布を示した。各々の指標は各週数で対数変換した場合正規分布を示した。この分布を最も近似する平均値の数式を図中に示した。sFlt1 と PlGF では在胎週数に関わらずデータの範囲はほぼ一定であったが、sFlt1:PlGF 比と sEng では、在胎週数とともにその分布は幅広くなっていた。さらに、在胎週数と SD の関係を最も近似する数式を求め、最終的に 95% 値および 5% 値を決定した。

2. 【子宮動脈血流異常妊婦における、sFlt1:PlGF 比、sEng の preterm PE 発

症予知精度の検討】

本研究は、まだ着手していない。来年度以降に実施する予定である。

3. 【PE ハイリスク妊婦における、sFlt1:PIGF 比、sEng 反復測定による preterm PE 発症予知法の開発】

本年度、この研究を行うために、本大学臨床研究倫理審査へ臨床研究申請書を提出し、9月17日付けで承認された。このため、本年10月より本研究を開始し、現在症例を集積中である。

考察

sFlt1, PIGF, sFlt1:PIGF 比、および sEng の4指標の95%値および5%値を決定した。これにより、妊娠16~19週、20~23週における子宮動脈血流速度波形のRIあるいはNDIの90%値以上を呈する妊婦、妊娠16~23週の外来血圧130/85mmHg以上を呈する妊婦、及び既往PIHなどのPEハイリスク妊婦を対象に、妊娠16週以降、4週間毎にsFlt1:PIGF比、sEng値を測定し、異常値の出現を追跡していくことが可能となった。

これまでの血管新生関連因子とPEとの関連を調べた研究において、血管新生関連因子の変化は、早発型PEにおいて、遅発型PEよりもより顕著であることが明らかにされた(2, 3-5)。また、遅発型PEにおいては、必ずしも疾患発症後に血管新生関連因子の変化が見られるとは限らないことも明らかにされた(3-5)。従って、血管新生関連因子を用いてPEの発症予知を行う場合、その対象をpreterm PEに限定することは妥当な選択と考えられる。

これまで、妊娠中期の子宮動脈血流速度波形と血管新生関連因子の組み合わせによって、PEの発症予知精度が上昇することが、1000例以上を対象とした（または30例以上のPE発症例を持つ）前方視的研究によって明らかにされている(6-9)。また、これまでの子宮動脈血流速度波形を用いたPE発症予知研究より、子宮動脈血流速度波形はpreterm PEの発症においてその感度が高いことが明らかにされている(1, 10)。従って、子宮動脈血流速度波形によるスクリーニングにおいて、すべてのPEを予知することをoutcomeとした場合、感度の低下が起こる。我々の前方視的研究でも、preterm PEをoutcomeとすれば、RIとNDIを組み合わせることによりその80%を捉えることができたが、term PEの発症予知感度は5%と極めて低率であった（未発表データ）。臨床的にその発症を予知して我々が積極的に介入すべき対象はpreterm PEであることを考慮すると、PEの発症予知の対象をpreterm PEに限定することは妥当な選択と考えられる。

我々は、1518例の妊婦後ろ向きコホート研究において、妊娠中期の血圧レベル120/80mmHg未満の至適血圧群に比較して、正常血圧(120-129/80-85mmHg)、正常血圧高値(130-139/85-89mmHg)、及び高血圧(140/90mmHg以上)では、PEの発症率が各々5.6倍、9.5倍及び20倍高いことを明らかにした(11)。我々の知る限り、血圧レベルと血管新生関連因子を組み合わせることで、PEの発症予知精度を改善させるかどうかについて、これまで研究

が行われていないが、我々の検討で、早発型 PE の中に、子宮動脈血流速度波形の異常を呈さず、血圧高値あるいは高血圧を背景に発症する一群が存在し、これらの妊婦では疾患発症時に sFlt1:PIGF 比及び sEng 値が上昇していることを確認している(未発表データ)。従って、preterm PE をより多くスクリーニングするためには、子宮動脈血流速度波形異常妊婦のみならず、妊娠中期の血圧レベル上昇例までを対象に含める必要があると考えられる。また、既往 PE 妊婦では、血管新生関連因子の上昇がその後の PE 発症と関連すること(12, 13)、preterm PE の既往妊婦は preterm PE を反復しやすいことが知られていることから(14)、既往 PE 発症妊婦、糖尿病、慢性腎炎、SLE、抗リン脂質抗体症候群などを合併している妊婦といった PE ハイリスク妊婦も対象に含める必要があると考えられる。

文献

1. Papageorgiou AT, Yu CK, Bindra R, Pandis G, Nicolaides KH; Fetal Medicine Foundation Second Trimester Screening Group. Multicenter screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by transvaginal uterine artery Doppler at 23 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001; 18: 441-9.
2. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, Karumanchi SA; CPEP Study Group. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006; 355: 992-1005.
3. Hirashima C, Ohkuchi A, Matsubara S, Suzuki H, Takahashi K, Usui R, Suzuki M. Alteration of serum soluble endoglin levels after the onset of preeclampsia is more pronounced in women with early-onset. *Hypertens Res* 2008; 31: 1541-8.
4. Ohkuchi A, Hirashima C, Matsubara S, Suzuki H, Takahashi K, Arai F, Watanabe T, Kario K, Suzuki M. Alterations in placental growth factor levels before and after the onset of preeclampsia are more pronounced in women with early onset severe preeclampsia. *Hypertens Res* 2007; 30: 151-9.
5. Hirashima C, Ohkuchi A, Arai F, Takahashi K, Suzuki H, Watanabe T, Kario K, Matsubara S, Suzuki M. Establishing reference values for both total soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and free placental growth factor in pregnant women. *Hypertens Res* 2005; 28: 727-32.
6. Diab AE, El-Beheery MM, Ebrahiem MA, Shehata AE. Angiogenic factors for the prediction of pre-eclampsia in women with abnormal midtrimester uterine artery Doppler velocimetry. *Int J Gynaecol Obstet* 2008; 102: 146-51.
7. Crispi F, Llorca E, Domínguez C, Martín-Gallán P, Cabero L, Gratacós E.

- Predictive value of angiogenic factors and uterine artery Doppler for early-versus late-onset pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 31: 303-9.
8. Espinoza J, Romero R, Nien JK, Gomez R, Kusanovic JP, Gonçaves LF, Medina L, Edwin S, Hassan S, Carstens M, Gonzalez R. Identification of patients at risk for early onset and/or severe preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and placental growth factor. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196: 326.e1-13.
 9. Parra M, Rodrigo R, Barja P, Bosco C, Fernández V, Muñoz H, Soto-Chacón E. Screening test for preeclampsia through assessment of uteroplacental blood flow and biochemical markers of oxidative stress and endothelial dysfunction. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193: 1486-91.
 10. Papageorghiou AT. Predicting and preventing pre-eclampsia-where to next? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008; 31: 367-70.
 11. Ohkuchi A, Iwasaki R, Suzuki H, Hirashima C, Takahashi K, Usui R, Matsubara S, Minakami H, Suzuki M. Normal and high-normal blood pressures, but not body mass index, are risk factors for the subsequent occurrence of both preeclampsia and gestational hypertension: a retrospective cohort study. *Hypertens Res* 2006 Mar; 29: 161-7.
 12. Sibai BM, Koch MA, Freire S, Pinto e Silva JL, Rudge MV, Martins-Costa S, Bartz J, de Barros Santos C, Cecatti JG, Costa R, Ramos JG, Spinnato JA 2nd. Serum inhibin A and angiogenic factor levels in pregnancies with previous preeclampsia and/or chronic hypertension: are they useful markers for prediction of subsequent preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol* 2008; 199: 268.e1-9.
 13. Moore Simas TA, Crawford SL, Solitro MJ, Frost SC, Meyer BA, Maynard SE. Angiogenic factors for the prediction of preeclampsia in high-risk women. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 244.e1-8.
 14. Koike T, Minakami H, Izumi A, Watanabe T, Matsubara S, Sato I. Recurrence risk of preterm birth due to preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 2002; 53: 22-7.

研究計画書

課題名	妊娠高血圧腎症ハイリスク因子及び血管新生関連因子による早産妊娠高血圧腎症発症予知法の開発				
研究責任者 (申請者)	所属	産婦人科学		職名	准教授
	氏名	大口昭英	e-mail address	担当者氏名	e-mail address
			okuchi@jichi.ac.jp	大口昭英	okuchi@jichi.ac.jp

1 被験者の選定方針

・ 本学附属病院の産科外来患者のうち、妊娠 20 週未満に受診した単胎妊娠の妊婦。

2 目標症例数

約 300 例

3 臨床研究の意義、目的、方法及び期間

(1) 意義

本研究は、すでに実施された臨床 03-01 号研究「妊娠中期の子宮動脈血流速度波形異常妊婦における血清 sFlt1 の経時的変化と preeclampsia(PE)発症に関する追跡研究」(以下前研究と略)の成果を受けて企画された。

PE でも、特に妊 37 週以前に発症する PE は母体及び胎児の予後に強い関連がある。すなわち、母体は早産となりやすく、胎児は低出生体重児となりやすい。前研究において、我々は、正常妊婦における soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1)、soluble endoglin (sEng) (ともに血管新生因子阻害物質) 及び placental growth factor (PlGF) (血管新生因子)、sFlt1:PlGF 比が PE で変化することを突き止めた。最近、我々は、妊娠中期の子宮動脈血流速度波形の resistance index (RI)あるいは notch depth index (NDI)が高いことが早産となる PE と強い関連を持つことを見出した。また、これらの子宮動脈血流速度波形異常を呈した妊婦のうち、将来早産となる PE を発症した妊婦では、疾患発症前の 10 週間以内に、その 100%が sFlt-1/PlGF 比 75%値かつ sEng 75%値を呈することを見出した。この結果から、我々は、子宮動脈血流速度波形異常を呈した妊婦において、妊娠中期から後期にかけて sFlt1:PlGF 比と sEng を経時的に検査すれば、早産となる PE を発症するリスクの極めて高い患者を見つけることが可能であると考えた。

一方、先行研究において、妊娠中期の prehypertension(血圧 \geq 130/85mmHg)を呈する妊婦は、約 10 倍 PE 発症リスクが増加することを見出している。

また、以前の妊娠で妊娠高血圧症候群を発症した場合、その後の妊娠における PE 発症

リスクは 25～50%になることが知られている。

以上より、本研究の意義は、最適の早期発見法、早期介入法を確立する基礎になることに、その意義がある。すなわち、妊娠高血圧腎症の中でも、特に早産となる妊娠高血圧腎症の発症リスクの高い妊婦を早く同定できれば、血圧上昇を早く見つけて速やかな対応ができるので、重篤な子癩の発生率が減少し、また、疾患が重篤化する前に安静にさせることができるので、疾患の進行を防ぎ、ひいては早産や子宮内胎児発育不全に伴う新生児疾患や死亡を少なくすることにつながると予想される。

(2) 目的

PE ハイリスク妊婦を対象に、血清 sFlt1:PIGF 比、sEng を経時的に反復測定し、早産 PE の発症予知に有用なリスク因子、在胎週数と sFlt1:PIGF 比、sEng 濃度の cutoff 値の組み合わせを調査すること。

(3) 方法

・対象は、妊娠 20 週未満に当院産科外来を受診した妊婦。多胎妊娠を除く。

・(1)妊娠 16-23 週に施行した子宮動脈血流速度波形計測において、resistance index (RI)あるいは notch depth index (NDI)が 90%値以上、(2)妊娠 16-23 週の外来血圧の平均値が 130/85mmHg 以上、(3)その他妊娠高血圧腎症（以下 PE）のハイリスクである患者の場合、妊娠 16 週以降 35 週まで、4 週間毎に、血清 5ml、血漿(EDTA 採血)5ml を採血し、測定まで-20℃で保存する。内、20-23 週、28-31 週は、通常診療検査があるので、その際に採血を追加するが、それ以外の 16-19 週、24-27 週、32-35 週は、診療のみで採血はないため、通常診療後に研究のために別途採血を行う。測定は、4 週間に 1 度程度行う予定である。

・後日、研究責任者は、sFlt-1、sEng、PIGF を測定する。測定にかかる費用は研究者が全額負担する。

・新たに、PE 発症と関連のある物質が発見された場合、後日それらの新規物質の測定を追加する。なお、このようなことを研究に追加する際には、新たに当院倫理審査委員会の承認を得てから実施する。

・sFlt1:PIGF 比が 95%値かつ sEng が 95%値であることが判明した場合、外来管理を 2 週間に 1 度から 1 週間に 1 度とする。

研究に用いる情報

	群の有無，高血圧家族歴 <ul style="list-style-type: none"> • 外来血圧 • 子宮動脈血流速度波形（妊娠16-23週） • 血清（血漿）PIGF, sFlt1, sEng（妊娠16~36週まで4週間隔，及びpreeclampsia発症時） • 家庭血圧測定値
Primary outcomes	妊娠高血圧症候群（高血圧，蛋白尿，HELLP症候群，子癇など）
Secondary outcomes	子宮内胎児発育遅延，新生児仮死，出生児体重，胎盤重量，分娩時週数，NICUへの入院，新生児合併症

・ Receiver-operating characteristic curve, t 検定、Fisher exact test、多重ロジスティック分析、曲線推定などの解析を SPSS で行う。

(4) 期間

概ね5年間で必要患者数に達すると想定しており，許可されてから平成26年3月31日まで

4 臨床研究に参加することにより被験者に対して期待される利益及び起こりうる危険並びに必然的に起こる不快な点、臨床研究終了後の対応

(1) 被験者にとって期待される利益

この臨床研究に参加した妊婦は，自分が妊娠高血圧症候群を発症しやすいリスクを持っているかどうか分かる。そのため，この検査を受けて妊娠高血圧症候群の発症リスクが高いと判定された場合，より注意深く母体の状態や胎児の状態を観察するようになるため，たとえ妊娠高血圧症候群が発症したとしても，そのような情報を持っていない妊婦さんよりもより早期に母児の異常を発見できる機会が増加すると予想される。

(2) 被験者に対して起こりうる危険

(a) 特になし。

(3) 被験者に対して必然的に起こる不快な点

妊娠 16 週以降 35 週まで、4 週間毎に、血清 5ml、血漿(EDTA 採血)5ml を採血し、その内、20-23 週、28-31 週は、通常診療検査があるので、その際に採血を追加するが、それ以外の 16-19 週、24-27 週、32-35 週は、診療のみで採血はないため、通常診療後に研究のために別途採血を行う。このため、妊婦健診に必要とされる以上の回数採血をしていただくことになり、採血に伴う不快が発生することが予想される。

(4) 被験者に対する臨床研究終了後の対応

臨床研究終了後に妊娠中毒症と関連する新たな物質が発見された場合、その物質の測定のために凍結保存中の検体を使用する場合がある。患者血清及び血漿は、研究終了後 10 年間凍結保存し、その後破棄する。

なお、このようなことを研究に追加する際には、新たに当院倫理審査委員会の承認を得てから実施する。

5 臨床研究に係る個人情報の保護の方法（被験者を特定できる場合の取り扱いを含む）

研究に用いる情報は、研究責任者が連結可能匿名化したうえで、研究に使用する。匿名化の対応表及びデータは、研究責任者が産科婦人科学部講座において、パスワードを設定したファイルに記録し、インターネットに接続していない、持ち出し防止用ロックのついたパソコンのハードディスクに保存する。同意書は患者カルテに付随したファイル内に保存する。バックアップは、MO で行い、当教室内の鍵のついたファイルケースに保管する。

6 共同研究機関の名称、共同研究者の所属、職名、氏名

なし

7 研究者等の所属、職名、氏名

産婦人科学	准教授	大口昭英	
産婦人科学	教授	松原茂樹	
産婦人科学	副手	平嶋周子	
産婦人科学	副手	高橋佳代	
産婦人科学	研究生	吉田美海	非常勤医員
産婦人科	大学院生	鈴木寛正	非常勤医員

8 インフォームド・コンセントのための手続き

研究者から被験者に対して添付の説明文書を用いて説明を行い、同意を得られた場合には添付の同意書に署名又は記名・押印をいただく。

成人（20歳未満の婚姻している者を含む）の被験者から同意を得ることが困難な場合には、代諾者（配偶者など）に説明を行い、同意書に署名または記名・押印をいただく。

未成年の被験者については、親権者への説明文書を用いた説明と共に、被験者本人に対しても理解力に応じた説明を行う。その上で被験者が16歳以上の場合には本人と親権者から文書による同意を得る。被験者が16歳未満の場合には、親権者から文書による同意を得る。なお、若年妊婦では妊娠高血圧腎症の発症頻度が高いため、本研究の対象者を成人に限定するのは、適切でない。

9 インフォームド・コンセントを受けるための説明事項及び同意文書

別紙のとおり

10 研究に係る資金源、起こりうる利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり

(1) 資金源

・「産科婦人科学講座研究費」、「厚生労働省科学研究費補助金による子ども家庭総合研究事業 わが国における新しい妊婦健診体制構築のための研究費」

(2) 起こりうる利害の衝突

なし

(3) 研究者等の関連組織との関わり

なし

11 臨床研究に伴う補償の有無(臨床研究に伴う補償がある場合にあっては、補償内容を

含む。)

一般の診療による危険：特になし。

研究自体に起因する危険：研究者の責任で治療等の対処を行う。被験者はこれによって生じた治療費に関する負担はない。

12 研究結果の公表

本研究で得られた結果は、日本妊娠高血圧学会などの関連学会で発表し、Hypertension Research 等の専門学術誌で論文として公表する予定である。いずれの場合においても公表する結果は統計的な処理を行ったものだけとし、被験者の個人情報は一切公表しない。